

## Szanowni Państwo!

Na powitanie Nowego Roku przedstawiamy kolejne wydanie newslettera OpenExome. Przegląd prac opublikowanych w ostatnich miesiącach 2013 zaowocował zestawem informacji dotyczących sekwencjonowania genomów roślin użytkowych. Polecamy Państwu notatkę na temat wyników prac działu R&D koncernu Monsanto oraz publikację niemiecko-hispańskiego konsorcjum naukowego podsumowującą projekt sekwencjonowania genomu buraka cukrowego. Jeżeli chodzi o nowatorskie wykorzystanie narzędzi genomicznych, to godnym uwagi artykułem jest praca autorstwa zespołu z amerykańskiego Instytutu Oceanografii w Massachusetts, pokazująca zastosowanie wyników uzyskanych technologią NGS do szacowania jakości oraz bogactwa surowca w danym złożu gazu łupkowego.

W kolejnych działach newslettera informujemy o najnowszych produktach i rozwiązaniach proponowanych przez partnerów OpenExome oraz przypominamy o zbliżających się konferencjach naukowych i seminariach.

Życzymy miłej lektury, czekając jednocześnie na Państwa komentarze i sugestie na temat treści kolejnych wydań naszego biuletynu.

Zespół OpenExome

## Ciekawe doniesienia literaturowe

### **Monsanto wykorzystuje NGS dla opisanie genomu baobabu afrykańskiego bawełny oraz na potrzeby weryfikacji ziaren roślin GMO**

Działania światowego lidera branży rolniczej firmy Monsanto są różnie oceniane przez rozmaite środowiska. Hodowcy roślin patrzący przez pryzmat dochodów jakie przynoszą plony są pełni uznania dla działań tego koncernu w obszarze udoskonalania odmian roślin uprawnych oraz produkcji innowacyjnych środków ochrony roślin. Z kolei przeciwnicy wprowadzania do obrotu organizmów genetycznie modyfikowanych potępiają działalność Monsanto.

OpenExome proponuje wystudzić emocje towarzyszące sporom ideologicznym i przyjrzeć się pracom badawczo-rozwojowym Centrum Badań Genomu firmy Monsanto. Nie jest tajemnicą, że koncern ten śledzi wszelkie nowinki biotechnologiczne, a te które uzna za godne uwagi szybko wprowadza do swoich laboratoriów. Sztandarowym przykładem jest badanie roli krótkich RNA w ekspresji genów i produkcji białek oraz wykorzystanie krótkich interferujących RNA jako broni przeciwko pasożytom roślin.



Jeśli chodzi o technologię NGS, to w ostatnim czasie laboratoria Centrum Badań Genomu Monsanto wyposażono w sekwenatory następnej generacji, które zostały zaprzęgnięte do odczytywania sekwencji genomów roślin, jak również do potwierdzania obecności wprowadzanych genów w ziarnach zbóż modyfikowanych genetycznie. Polecamy Państwa uwadze artykuł autorstwa Davida Kovalica (Monsanto), Carla Garnaata (Bayer Crop Science) i współpracowników opublikowany w 2012 roku na łamach amerykańskiego czasopisma *The Plant Genome*, który dotyczy wykorzystania technologii NGS oraz współczesnych narzędzi bioinformatycznych do identyfikacji i klasyfikacji roślin GMO ([tekst artykułu](#)). Ciekawą lekturą wydają się również:

- notatka dotycząca projektu sekwencjonowania genomu baobabu afrykańskiego (*Adanonia digitata*), z której wynika, że rozmiar genomu tego potężnego długowiecznego drzewa jest znacznie mniejszy niż spodziewali się naukowcy oraz że dane genetyczne potwierdzają przynależność

## Produkty - ważne informacje

[NGS a badanie translacji:  
ARTseq Ribosome Profiling Kits](#)

[Nowe panele genowe Multiplicom:  
MODY, ADH oraz HCM MASTR](#)

[Nextera Rapid Capture Exome  
\(8 samples\)](#)

[SINGuLAR Analysis Toolset 2.1 -  
single cell genomics software](#)

## Fakty i wydarzenia

[Styczniowe seminaria on-line](#)

[Kalendarium konferencji w Polsce](#)

[Konferencje zagraniczne](#)

baobabu do rodziny ślazowatych i pewne pokrewieństwo tego drzewa z bawełną ([notatka](#))

- notatki na stronie Monsanto dotyczące projektu sekwencjonowania genomu bawełny ([link](#))

Źródła:

- <https://www.crops.org/publications/tpg>
- <http://www.monsanto.com/products/Pages/monsanto-science-and-research.aspx>
- <http://www.illumina.com/applications/agriculture/community.ilmn>

### Sekwencjonowanie genomu buraka zwyczajnego (*Beta vulgaris*)

Pozostając w temacie roślin uprawnych podpowiadamy Państwu lekturę, dostępnej na łamach grudniowego pisma Nature, publikacji autorstwa niemiecko-hiszpańskiego zespołu badawczego kierowanego przez profesorów Heinza Himmelbauera i Berndta Weisshaara. W ramach prac konsorcjum Plant2030 AnnoBeet Consortium i przy wykorzystaniu możliwości wysokoprzepustowych platform NGS wiodących dostawców (w tym systemu HiSeq firmy Illumina) opracowano pierwszą sekwencję referencyjną genomu buraka zwyczajnego. Burak zwyczajny to roślina powszechnie uprawiana w Europie, głównie na potrzeby przemysłu cukrowniczego dla producentów bioetanolu oraz wytwórców pasz dla zwierząt.

Treść artykułu szczegółowo opisująca metodologię i stosowane narzędzia bioinformatyczne z pewnością będzie swego rodzaju przewodnikiem dla osób rozważających sekwencjonowanie genomowe w swoich projektach badawczych. Natomiast sama sekwencja zdeponowana w bazie danych niesie wiele nowych informacji dla ośrodków zajmujących się udoskonalaniem odmian buraka zwyczajnego i będzie pomocna np. podczas identyfikacji genów związanych z określonymi cechami korzystnymi lub niepożądanymi z punktu widzenia hodowców.

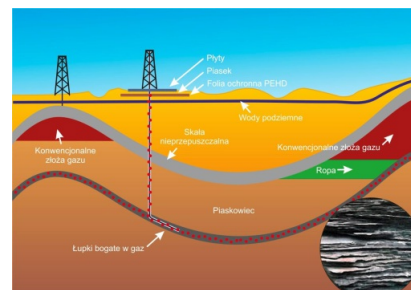
Źródła:

- Pubmed - PMID: 24352233
- <http://bvseq.molgen.mpg.de/Genome/index.shtml>

### Charakterystyka konsorcjów bakteryjnych z terenu zasobnego w gaz łupkowy

Artykuł autorstwa Cornelii Wuchter i współpracowników zamieszczony w grudniowym wydaniu czasopisma Frontiers in Microbiology zwrócił naszą uwagę, ponieważ pokazuje, że technologia sekwencjonowania następnej generacji znalazła zastosowanie w badaniach związanych z niekonwencjonalnymi źródłami energii. Grupa badaczy z Instytutu Oceanografii w Woods Hole, Massachusetts podjęła się charakterystyki organizmów prokariotycznych obecnych w zbiornikach i ciekach wodnych z obszaru intensywnego wydobycia gazu łupkowego o nazwie Antrim, który znajduje się na terenie Basenu Michigan.

Wykonano szereg analiz fizykochemicznych mających na celu zbadanie składu chemicznego pobranych próbek wody oraz zdolności konsorcjów bakteryjnych do produkcji metanu zależnie od dostępności określonych substratów w środowisku. Jeśli zaś chodzi o identyfikację konkretnych gatunków mikroorganizmów obecnych w pobranych próbkach, autorzy publikacji posłużyli się protokołem dedykowanym do badań metagenomicznych i wykonali sekwencjonowanie 16S RNA w systemie MiSeq Illumina. Uzyskane wyniki wskazują, że w badanym materiale występowały określone gatunki organizmów prokariotycznych (głównie bakterii i archebakterii).



Autorzy publikacji twierdzą, że na zawartość metanu w łupkach, a tym samym na atrakcyjność danego złoża dla firm wydobywczych z pewnością wpływ ma skład gatunkowy mikroorganizmów bytujących w tym środowisku, ale podczas prognozowania zawartości gazu na obszarach perspektywicznych pod uwagę należy brać też takie czynniki jak mikrostruktura szczelin w skale, obecność oraz skład chemiczny wody w skale, wysycenie wody określonymi gazami i substancjami.

Źródło:

- Pubmed - PMID: 24367357

## Informacje od partnerów OpenExome

### Epicentre

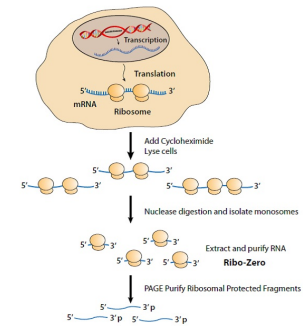
#### ARTseq Ribosome Profiling Kits

Sekwencjonowanie ulegającej translacji w danym momencie puli mRNA jest już możliwe. Zwracamy Państwa uwagę na zestaw odczynników ARTseq Ribosome Profiling Kits, czyli narzędzie pozwalające przygotować na potrzeby sekwencjonowania następnej generacji bibliotekę mRNA aktywnego transkrypcyjnie.

Selekcja i sekwencjonowanie nici mRNA, które związane są z podjednostkami rybosomów, pozwala na:

- ilościową analizę ekspresji genów
- identyfikację miejsc startu translacji
- przewidywanie syntezy określonych białek w komórce
- opis mechanizmów kontrolujących translację
- analizę *in vivo* translacji oraz procesów ko-translacyjnych

Schemat przygotowania biblioteki NGS aktywnego transkrypcyjnie RNA protokoły pracy z poszczególnymi zestawami ARTseq dostępne są [tutaj](#).



## Multiplicom

### Premiera MODY, ADH oraz HCM - kolejnych paneli genowych MASTR firmy Multiplicom oraz certyfikowanego CE/IVD zestawu znaczników molekularnych (barcodes) do sekwenatora MiSeq

W grudniu 2013 katalog firmy Multiplicom powiększył się o cztery nowe produkty przeznaczone do diagnostyki klinicznej oraz badań naukowych prowadzonych z wykorzystaniem technologii NGS:

• **Zestaw CE/IVC MID for Illumina MiSeq** - to dobrze już znany klientom Multiplicom zestaw sekwencji/ znaczników molekularnych umożliwiających prowadzenie reakcji typu multipleks w sekwenatorze MiSeq, który uzyskał certyfikację do diagnostyki klinicznej (certyfikowane CE/IVD). W ofercie firmy znajdują się dwa zestawy, każdy zawiera po 48 różnych wariantów podwójnych znaczników. Łączne wykorzystanie tych dwóch zestawów pozwala na analizę do 192 prób podczas jednej reakcji sekwencjonowania.

<http://www.multiplicom.com/products/mid-for-illumina-miseq-0>

• **MODY MASTR** - to panel genowy pozwalający na wczesną diagnostykę cukrzycy typu 2 występującej u osób młodych (ang.: MODY, maturity onset diabetes of the young). Panel MASTR MODY obejmuje regiony kodujące siedmiu genów mających wpływ na produkcję insuliny (ABCC8, GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, INS and KCNJ11), których mutacje związane są z przyczynami tej choroby. Wykonanie pięciu reakcji PCR typu multipleks zapewnia wzbogacenie próbek w 118 amplikonów obejmujących sekwencje kodujące wymienionych genów.

<http://www.multiplicom.com/products/mody-mastr>

• **ADH MASTR** - to narzędzie pozwalające na prowadzenie oceny genetycznych predyspozycji pacjenta do hipercholesterolemii, która pośrednio pozwala przewidzieć skłonność do miażdżycy oraz przedwczesnych problemów z układem krążenia. ADH, to rodzinna hipercholesterolenia dziedziczona w sposób autosomalny dominujący. Panel ADH MASTR pozwala na przygotowanie biblioteki obejmującej regiony kodujące i promotorowe genów LDLR, PCSK9 i ApoE oraz fragmentu egzonu nr 26 genu ApoB. Wzbogacenie próbek w sekwencje mające zostać poddane sekwencjonowaniu odbywa się w trakcie 4 reakcji typu PCR multipleks (powstają łącznie 63 amplikony).

<http://www.multiplicom.com/products/adh-mastr>

• **HCM MASTR** - to panel pomocny w opisie predyspozycji pacjenta do rozwoju rodzinnej kardiomiopatii przerostowej. Jest to choroba dziedziczona w sposób autosomalny dominujący i u jej podstaw leżą mutacje w obrębie następujących genów: MYBPC3, MYH7, TNNI3, TNNT2 oraz MYL2. Wykorzystując panel HCM MASTR należy przeprowadzić pięć reakcji PCR typu multipleks i wówczas przygotowuje się biblioteki obejmujące całe regiony kodujące wyżej wymienionych genów (łącznie 131 amplikonów).

<http://www.multiplicom.com/products/hcm-mastr>

## Illumina

### Nowy mniejszy format zestawu Nextera Rapid Capture Exome

Odpowiadając na potrzeby użytkowników systemów MiSeq firma Illumina wprowadziła produkt Nextera Rapid Capture Exome (8 samples), czyli nowy mniejszy format zestawu do wzbogacania bibliotek egzomowych.

Nextera Rapid Capture Exome to najszybszy na rynku sposób przygotowania doskonałej jakości bibliotek DNA, który pozwala na selekcję sekwencji egzomowych człowieka o łącznej wielkości 37 Mb dając 4Gb informacji uzyskanej w reakcji NGS. Kompleksowy protokół Nextera Rapid Capture Exome wymaga jedynie 50 ng genomowego DNA jako wyjściowego materiału i gwarantuje wysoce wydajne przygotowanie do 96 bibliotek egzomowych w zaledwie 1,5 dnia (w tym jedynie 5 godzin pracy manualnej).

Illumina zoptymalizowała zestaw Nextera Rapid Capture Exome (8 samples) do przygotowania biblioteki kodującego DNA w układzie singleplex. Zestaw zawiera wszystkie odczynniki niezbędne do przygotowania wzbogacanej w sekwencje egzomowe biblioteki DNA i jest w pełni kompatybilny z najnowszą wersją odczynników do sekwencjonowania MiSeq Reagent Kit v3. Illumina zaleca analizę pojedynczej biblioteki egzomowej podczas jednej reakcji sekwencjonowania w urządzeniu MiSeq i sugeruje prowadzenie reakcji sekwencjonowania z odczytem 2 x 150 pz przy użyciu zestawu MiSeq Reagent Kit v3 (150 cycles) lub dla osiągnięcia wyższego współczynnika pokrycia sekwencji - MiSeq Reagent Kit v3 (600 cycles).

Wszystkich zainteresowanych informujemy, że zestaw Nextera Rapid Capture Exome (8 samples) o numerze katalogowym FC-140-1000 jest już dostępny komercyjnie. Więcej informacji na stronie: <http://www.illumina.com/products/nextera-rapid-capture-exome-kits.ilmn>

## Fluidigm

### SINGuLAR Analysis Toolset 2.1 - oprogramowanie do badań typu single-cell genomics

Firma Fluidigm przedstawia SINGuLAR Analysis Toolset 2.1. To nowa wersja unikalnego oprogramowania, pozwalającego opracowywać wyniki uzyskane w technologii genomiki pojedynczej komórki. SINGuLAR to narzędzie dla biologów komórki, którzy zamierzają zinterpretować wyniki analizy ekspresji genów i zidentyfikować specyficzne subpopulacje komórek w niejednorodnej próbce. Nowa wersja oprogramowania pozwala na opracowanie wyników takich aplikacji jak single-cell mRNA Sequencing, single-cell Targeted Gene Expression oraz Single-cell microRNA Expression Profiling.

Oprogramowanie SINGuLAR pozwala teraz w czterech prostych krokach przeanalizować dane uzyskane z wysokoprzepustowych systemów (C1 Single Cell Auto Prep System, BioMark HD System oraz sekwenatory NGS Illumina), podsumować różnice ekspresji genów w badanych próbkach i przedstawić wyniki w przejrzysty, graficzny sposób. Tym samym możliwe jest samodzielne opracowanie danych, bez konieczności korzystania z usług firm bioinformatycznych lub pisanie skryptów na zamówienie. Więcej informacji: <http://www.fluidigm.com/singular-analysis-toolset.html>.



**SINGuLAR™ Analysis Toolset 2.1**  
Simplify your single-cell data analysis.  
Now available on Windows and Mac OSX.

## Przypominamy o terminach zbliżających się ...

### ... seminariów on-line (tzw. webinars) prowadzonych przez specjalistów aplikacyjnych firmy Illumina:

Illumina prowadzi szkolenia on-line dotyczące prowadzenia badań z wykorzystaniem technologii sekwencjonowania następnej generacji oraz mikromacierzy.

W styczniu zespół Illumina Technical Support przewiduje następujące tematy:

- obejmujący 5 seminariów (7, 14, 16, 23 i 30 stycznia) rozbudowany blok tematyczny dotyczący sekwencjonowania RNA
- ocena przebiegu i jakości reakcji sekwencjonowania z wykorzystaniem Sequence Analysis Viewer (SAV)
- demultipleksowanie sekwencji po reakcji sekwencjonowania - Open Forum
- wprowadzenie badań epigenetycznych z wykorzystaniem mikromacierzy Infinium Methylation

Uczestnictwo w seminariach (webinarach) Illumina wymaga dostępu do internetu oraz aktywnego połączenia telefonicznego (połączenie bezpłatne). Aby wziąć udział w danym seminarium należy dokonać uprzedniej rejestracji drogą elektroniczną. Kompletną listę styczniowych seminariów oraz linki rejestracyjne znajdziecie Państwo na stronach [www.OpenExome](http://www.OpenExome.com) oraz [Illumina](http://www.Illumina.com):

<http://support.illumina.com/training/array.ilmn>

<http://support.illumina.com/training/sequencing.ilmn>

### ... konferencji i sympozjów w Polsce:

#### Przeszłość i przyszłość diagnostyki laboratoryjnej: diagnostyka molekularna i genetyczna

17.01.2014. Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej UM we Wrocławiu

[link](#)

#### CrimeLab - III Międzynarodowe Targi Techniki Kryminalistycznej

12-14.03.2014. Warszawa

[link](#)

**... konferencji zagranicznych:**

**Fundamentals of Clinical Genomics**

14-17.01.2014. Hixton, Cambridge, UK

[link](#)

**Omics meets Cell Biology: Applications to human Health and Disease**

18-23.02.2014. Taos, New Mexico, USA

[link](#)

**Mobile Genetic Elements and Genome Evolution**

9-14.03.2014. Santa Fe, New Mexico, USA

[link](#)

**Big Data in Biology**

23-25.03.2014. San Francisco, California, USA

[link](#)

**Epigenetic Programming and Inheritance**

6-10.04.2014. Taos, Boston, Massachusetts, USA

[link](#)

